

Produção de forragem e qualidade de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com *Azospirillum brasilense* e fertilizada com nitrogênio*

Introdução

As bactérias do gênero *Azospirillum* são microrganismos de vida livre fixadores de nitrogênio atmosférico, que vivem em associação com plantas na rizosfera. Um dos benefícios desse processo é a promoção do desenvolvimento e do aumento na produção de biomassa. Na rizosfera, essas bactérias podem auxiliar as plantas por meio da secreção de hormônios. Esses fitormônios sintetizados pelos microrganismos aumentam a taxa de respiração e de metabolismo e a proliferação das raízes, promovendo melhor absorção de água e de nutrientes pelas plantas (Okon & Itzigsohn, 1995). Atualmente, existe concordância na literatura de que as vantagens da associação de plantas com *Azospirillum* são mais relacionados à promoção do desenvolvimento vegetal, principalmente do sistema radicular, do que à fixação biológica de nitrogênio, embora haja inúmeros relatos que apontam para a viabilidade desse processo de fixação de N.

Okon & Vanderleyden (1997), baseando-se em dados acumulados durante 22 anos de pesquisa de campo com experimentos de inoculação, concluíram que o gênero *Azospirillum* promove ganhos em rendimento em importantes culturas nas mais variadas condições de clima e de solo; contudo, esses autores salientam que, além da fixação biológica de nitrogênio, essas bactérias auxiliam no aumento da superfície de absorção das raízes da planta e, conseqüentemente, no aumento do

volume de substrato de solo explorado. Tal constatação é justificada pelo fato de a inoculação modificar a morfologia do sistema radicular, aumentando não apenas o número



Fotos: Patrícia Anchão Períndi Oliverira

São Carlos, SP
Dezembro de 2007

Autores

Patrícia Perondi Anchão Oliveira
Agrônoma, Dra., Pesquisadora da
Embrapa Pecuária Sudeste,
Rod. Washington Luiz, km 234, CEP
13560-970, São Carlos, SP
Endereço eletrônico:
ppaolive@cnpse.embrapa.br

Wladimir Salles de Oliveira
Test Facility Manager. Monsanto do
Brasil Ltda. Av. Nações Unidas, 12901,
Brooklin, São Paulo, SP.

Waldomiro Barioni Junior
Estatístico, Dr., Pesquisador da
Embrapa Pecuária Sudeste,
Rod. Washington Luiz, km 234, CEP
13560-970, São Carlos, SP
Endereço eletrônico:
barioni@cnpse.embrapa.br

* Apoio financeiro: Sintesis Química SAIC, Buenos Aires, Argentina, e Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

de radículas, mas também o diâmetro das raízes laterais e adventícias. Parte ou talvez muitos desses efeitos de *Azospirillum spp.* nas plantas podem ser atribuídos à produção, pela bactéria, de fitormônios, substâncias promotoras de crescimento, entre elas auxinas, citocinas e giberelinas, e não somente à fixação de N (Cavallet et al., 2000; Reis Júnior et al., 2004).

No Brasil, a prática da inoculação com *Azospirillum* tem sido questionada, pois a população nativa desta bactéria é muito grande nos solos brasileiros. Quando os solos são quase estéreis, não possibilitando o desenvolvimento de microrganismos, como em Israel, aumentos da ordem de 10% a 30% na produção de cereais foram observados como resultado da inoculação com *Azospirillum*. Estimativas de fixação biológica de N em pastagens, da ordem de 5 a 10 kg.ha⁻¹ de N ao mês, foram compiladas no Brasil por Döbereiner (1992), que inferiu a possibilidade de resposta à inoculação no Brasil quando as bactérias introduzidas forem mais eficientes do que aquelas já existentes no solo. Em sistemas de pastagens degradadas também se espera algum efeito da inoculação, devido à pobreza do solo desses sistemas.

A associação de inoculantes com adubos nitrogenados concorre para promover reduções nas doses de nitrogênio necessárias, em níveis idênticos de produtividade. Machado et al. (1998) testaram o efeito da adubação nitrogenada associada à inoculação com uma mistura de estirpes de bactérias diazotróficas (*A. amazonense*, *A. lipoferum* e *Herbaspirillum seropedicae*) em milho e constataram aumento de produção de 4.830 kg.ha⁻¹ para 5.790 kg.ha⁻¹ devido à inoculação, quando aplicaram a dose de 100 kg.ha⁻¹ de N. O aumento da produção

também foi acompanhado pelo aumento do teor de N nos grãos. Em concordância com esses resultados, Cavallet et al. (2000) encontraram aumento de 17% na produção de grãos de milho, de 5.211 para 6.067 kg.ha⁻¹, e de 6% na média do comprimento das espigas, quando inocularam as sementes de milho com *Azospirillum spp.*

Na cultura do trigo, Didonet et al. (1996) observaram que a redução da dose de N de 60 kg.ha⁻¹ para 15 kg.ha⁻¹ pode ser realizada quando associada à inoculação com *A. brasilense* na semeadura, mantendo a mesma produtividade. No trigo não se observou aumento da produção de grãos, restringindo-se somente a aumento da biomassa. Esse seria um efeito interessante em pastagens, já que o acúmulo de forragem é o objetivo principal da produção.

O presente experimento teve por objetivo avaliar a viabilidade de uso de um inoculante comercial de *Azospirillum brasilense* em capim-marandu, gramínea utilizada como pastagem, procurando-se estudar a interação entre a inoculação e a fertilização nitrogenada, e mensurar principalmente variáveis relacionadas à produção de biomassa.

Condução do trabalho

O experimento foi realizado em condições irrigadas na Embrapa Pecuária Sudeste, no município de São Carlos, SP (22°1' Sul e 47°53' Oeste), em média de altitude de 856 m, em Latossolo Vermelho distrófico. As características do solo eram as seguintes: pH em CaCl₂ = 4,6; matéria orgânica = 17 g.dm⁻³; P = 27 mg.dm⁻³; 2,3, 13, 4 e 45 mmol_c.dm⁻³ de K, Ca e Mg trocáveis e H + Al, respectivamente; Al = 0; saturação por bases = 30%; e S (Ca(H₂PO₄)₂) = 19 mg.dm⁻³.

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso em esquema fatorial, com quatro repetições. Os tratamentos consistiram da combinação de dois fatores: inoculação com *Azospirillum brasilense* (presença ou ausência) e doses de nitrogênio (0, 150, 200 e 300 kg.ha⁻¹). As parcelas (2 m x 5 m) foram locadas no campo em novembro de 2004, com 1 m de espaçamento entre elas.

Foi realizada calagem para elevar a saturação por bases a 80% com 5 t.ha⁻¹ de calcário dolomítico com poder de neutralização total de 65%, em maio de 2004. O plantio de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu foi realizado em 3/12/2004, no espaçamento de 20 cm, com 1,5 cm de profundidade e taxa de semeadura de 3,5 kg.ha⁻¹ de sementes puras viáveis. As sementes foram inoculadas com *Azospirillum brasilense* (estirpe AZO 39, 1 x 10⁸ UFC.ml⁻¹) na dose de 150 mL.ha⁻¹. No plantio foi realizada a fertilização com 150 kg.ha⁻¹ de superfosfato simples e 30 kg.ha⁻¹ de FTE-BR12.

O primeiro corte de uniformização foi realizado em 3/3/2005. Na época das águas (setembro a março), as fertilizações de cobertura foram realizadas de acordo com cada tratamento. Nos tratamentos em que a dose de N foi de 150 kg.ha⁻¹ por ano, houve quatro coberturas com 37,5 kg.ha⁻¹ de N; nos tratamentos em que a dose foi 200 kg.ha⁻¹ por ano, quatro coberturas com 50 kg.ha⁻¹ de N; e nos tratamentos em que a dose foi 300 kg.ha⁻¹ por ano, quatro coberturas com 75 kg.ha⁻¹ de N. As coberturas foram realizadas após o corte da forragem.

As datas dos cortes foram as seguintes: 3/3, 4/4, 1/6, 9/8, 15/9, 21/10, 28/11, 29/12 de 2005 e 1/2/2006. Em cada corte foi

avaliada a produção da parte aérea da forragem por meio da coleta de quatro subamostras (0,4 m x 0,2 m) em cada parcela, na altura de 20 cm. Após o término das avaliações da parte aérea foram coletadas amostras de resíduo (0 a 20 cm da superfície do solo), empregando-se o mesmo procedimento adotado para a parte aérea, e amostras de raízes, até 20 cm de profundidade, por meio de sonda (0,15 m de diâmetro) – duas subamostras por parcela, separadas do solo por meio de lavagem com água em peneira com malha de 0,75 mm. As amostras da parte aérea, das raízes e do resíduo foram secadas em estufa a 65° C até peso constante.

O teor de proteína bruta e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca na forragem foram avaliados na época das águas e na seca.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa estatístico SAS for Windows®. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, adotando-se o nível de significância de 5%.

Apresentação dos Resultados

A análise de variância, as médias dos resultados de produção de matéria seca em cada corte e a soma da produção anual estão apresentadas na Tabela 1. Houve interação entre inoculação com *Azospirillum* e dose de nitrogênio no primeiro corte pós-plantio, realizado em março de 2005 (Tabela 1). O tratamento sem aplicação de nitrogênio e com inoculação produziu mais forragem do que a testemunha (sem aplicação de N e sem inoculação), o que concorda com os resultados de Didonet et al. (1996) e Galal

(1997); esses autores encontraram aumento de produção de biomassa quando inocularam sementes de trigo e de soja, respectivamente.

Quando se aplicou nitrogênio na pastagem não houve efeito da inoculação; porém, no tratamento com adubações parceladas de 75 kg.ha⁻¹ de N + inoculação com *Azospirillum*, houve decréscimo na produção em relação ao tratamento em que apenas se inoculou e não se realizou as coberturas nitrogenadas, contrariando os resultados obtidos por Machado et al. (1998) e Cavallet et al. (2000).

O efeito da inoculação somente foi detectado no primeiro corte após a semeadura; nos outros cortes não se verificou nenhuma diferença estatística em produtividade, fato que fez com que não houvesse variação na soma da produção no primeiro ano. Em decorrência disso não houve significância nas curvas de resposta à adubação nitrogenada. Esse fato contradiz o que acontece normalmente nos trabalhos em que se avalia a fertilização nitrogenada em pastagens, quando existe aumento de produção em função do incremento das doses de fertilizantes nitrogenados (Oliveira et al., 2003). Nos experimentos com esse mesmo inoculante em condições controladas de casa de vegetação a resposta às diferentes doses de N foram lineares, até a dose equivalente a 200 kg.ha⁻¹.

Outro fato controverso é a alta produção de forragem nos tratamentos que não receberam adubação nitrogenada, o que

contraria a maioria dos artigos científicos encontrados na literatura. Uma vez que o teor de matéria orgânica do solo era baixo (17 g.dm⁻³), o que limitaria o suprimento de N por mineralização, uma possível explicação para esses fatos é que a distância adotada entre as parcelas (1 m) tenha permitido a infecção de todas as parcelas com *Azospirillum*. Essa hipótese ainda poderia explicar outro resultado intrigante, o elevado teor de N na parte aérea dos tratamentos, acima de 23 g.kg⁻¹, valor a partir do qual Primavesi et al. (2005) não verificaram aumento de produção de forragem.

A análise de variância e a quantidade de raízes e o resíduo pós-corte da forragem existente após um ano da inoculação com *Azospirillum* estão apresentados na Tabela 2. Não foi encontrado efeito da inoculação com *Azospirillum* sobre a quantidade de resíduo e de raízes no fim do período experimental. Esse fato se contrapõe à maioria dos resultados relatados em artigos publicados com *Azospirillum spp.* (Okon & Itzigsohn, 1995; Okon & Vanderleyden, 1997; Galal, 1997) e talvez possa ser explicado pela presença de irrigação no presente experimento.

Não houve efeito da inoculação e das doses de nitrogênio sobre o teor de N na parte aérea, apesar de Machado et al. (1998) terem encontrado aumento do teor de N em grãos de milho após a inoculação com *Azospirillum*. A digestibilidade *in vitro* da matéria seca no verão foi afetada negativamente pela inoculação com *Azospirillum* (Tabela 2).

Tabela 1. Produção de forragem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função da inoculação com *Azospirillum brasilense* (estirpe AZO 39) e da fertilização com nitrogênio.

Fatores	Épocas de corte (mês/ano)										
	mar/05	abr/05	jun/05	ago/05	set/05	out/05	nov/05	dez/05	fev/06	Anual	
Inoculação	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns	
Dose de N	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
Azospirillum x dose de N	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
Azospirillum	Dose de N	Produção de matéria seca de forragem (kg.ha⁻¹)									
Com	0 kg.ha ⁻¹	6,9 a ¹	6,2	2,1	0,8	1,3	1,8	2,1	2,0	2,1	25,1
Sem	0 kg.ha ⁻¹	4,6 b	5,6	1,6	0,7	1,3	2,4	2,3	1,9	2,4	22,6
Com	150 kg.ha ⁻¹	5,4 ab	6,6	1,6	0,8	1,4	1,9	2,3	2,0	2,5	24,4
Sem	150 kg.ha ⁻¹	5,1 ab	6,5	2,3	0,8	1,5	2,4	2,5	1,7	3,6	26,4
Com	200 kg.ha ⁻¹	4,4 b	7,1	1,8	0,7	1,3	1,4	2,6	2,2	2,4	25,1
Sem	200 kg.ha ⁻¹	6,2 ab	6,3	1,6	1,1	1,6	1,8	2,4	2,1	2,8	24,0
Com	300 kg.ha ⁻¹	6,1 ab	6,3	1,8	1,0	1,4	1,8	2,9	1,9	3,0	26,1
Sem	300 kg.ha ⁻¹	6,4 ab	6,6	2,1	1,0	1,6	1,9	2,4	2,6	2,2	26,8
Média (kg.ha ⁻¹)		5,6	6,4	1,8	0,9	1,4	1,9	2,4	2,0	2,6	25,1
CV (%)		21,6	12,5	26,3	34,9	19,9	26,7	15,3	34,0	27,5	8,6

¹ Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV = coeficiente de variação; * = diferença significativa (P < 0,05); ** = diferença significativa (P < 0,01); ns = não significativo (P > 0,05).

Tabela 2. Quantidade de raízes e de resíduo pós-corte da forragem um ano após a inoculação com *Azospirillum* e qualidade da forragem produzida em duas épocas do ano.

Fatores	Raiz (t/ha)	Resíduo (t/ha)	N	PB	DIVMS	N	PB	DIVMS	
			(g/kg) verão	(%) verão	(%) verão	(g/kg) inverno	(%) inverno	(%) inverno	
Inoculação com <i>Azospirillum</i>	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns	ns	
Dose de N	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
Azospirillum x dose de N	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
Azospirillum	Dose de N								
Com	0 kg.ha ⁻¹	4,5	7,6	23	14,3	64,7	26	16,5	72,9
Sem	0 kg.ha ⁻¹	5,2	6,7	25	15,4	69,0	26	16,4	74,1
Com	150 kg.ha ⁻¹	6,0	7,2	24	15,5	65,5	26	16,5	73,5
Sem	150 kg.ha ⁻¹	4,4	7,2	25	15,9	68,3	27	16,7	72,0
Com	300 kg.ha ⁻¹	4,5	7,8	26	16,0	66,5	26	16,4	74,4
Sem	300 kg.ha ⁻¹	4,9	7,1	25	15,6	66,7	26	16,5	73,2
Com	450 kg.ha ⁻¹	5,2	7,0	27	16,8	66,6	27	17,0	73,9
Sem	450 kg.ha ⁻¹	2,9	6,9	26	16,5	68,2	27	17,2	71,0
Média com inoculação	-	-	-	-	65,6b	-	-	-	
Média sem inoculação	-	-	-	-	68,1a	-	-	-	
Média geral		4,7	7,2	25,2	15,8	66,8	26,6	16,6	73,1
CV (%)		47,5	8,6	9,0	9,0	2,6	3,5	3,8	2,5

¹ Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns = não significativo (P > 0,05); * = diferença significativa (P < 0,05); PB = proteína bruta; DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca; CV = coeficiente de variação.

Recomendação Técnica

A inoculação das sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com *Azospirillum* aumentou a produção de forragem no primeiro corte e pode se constituir em prática recomendada para melhoria do estabelecimento de novas áreas de pastagem.

Literatura citada

- CAVALLET, L. E.; PESSOA, A. C. dos S.; HELMICH, J. J.; HELMICH, P. R.; OST, C. F. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum spp.* **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, p. 129-132, 2000.
- DIDONET, A. D.; RODRIGUES, O.; KENNER, M. H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 31, p. 645-651, 1996.
- DÖBEREINER, J. Fixação de nitrogênio em associação com gramíneas. IN: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, C. **Microbiologia do solo**. 1.ed. Campinas: SBCS, 1992. p. 173-180.
- GALAL, Y. G. M. Dual inoculation with strains of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* to improve growth and biological nitrogen fixation of soybean (*Glycine max* L.). **Biology and Fertility of Soils**, v. 24, p. 317-332, 1997.
- MACHADO, A. T.; SODEK, L.; DÖBEREINER, J.; REIS, V. M. Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com bactérias diazotróficas no comportamento bioquímico da cultivar de milho nitroflint. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 33, p. 961-970, 1998.
- OKON, Y.; ITZIGSOHN, R. The development of *Azospirillum* as a commercial inoculant for improving crop yield. **Biotechnology Advances**, v. 13, p. 415-424, 1995.
- OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **ASM News**, v. 63, p. 364-370, 1997.
- OLIVEIRA, P. P. A.; TRIVELIN, P. C. O.; OLIVEIRA, W. S.; CORSI, M. Fertilização com N e S na recuperação de pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 4, p. 1121-1129, 2005.
- PRIMAVESI, A. C.; PRIMAVESI, O.; CORREA, L. A.; CANTARELLA, H.; SILVA, A. G. Efeito de doses e de fontes de nitrogênio na composição mineral de capim-marandu. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. 7 p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Comunicado Técnico, 58).
- REIS JUNIOR, F. B.; SILVA, M. F.; TEIXEIRA, K. R. S.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Identificação de isolados de *Azospirillum amazonense* associados a *Brachiaria spp.*, em diferentes épocas e condições de cultivo e produção de fitormônio pela bactéria. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 103-113, 2004.

Circular Técnica, 54

Embrapa Pecuária Sudeste
Endereço: Rod. Washington Luiz, km 234, Caixa Postal 339, São Carlos, SP
Fone: (16) 3361-5611
Fax: (16) 3361-5754
E-mail: sac@cppse.embrapa.br

1ª edição on-line (2007)

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento



Comitê de publicações

Presidente: Alberto C. de Campos Bernardi.
Secretário-Executivo: Edison Beno Pott.
Membros: Carlos Eduardo Silva Santos, Maria Cristina Campanelli Brito, Odo Primavesi, Sônia Borges de Alencar.

Expediente

Revisão de texto: Edison Beno Pott.
Editoração eletrônica: Maria Cristina Campanelli Brito.